

УДК 632.19 + 557.42  
© 1994

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ИНВАЗИОННУЮ АКТИВНОСТЬ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ НЕМАТОД СЕМЕЙСТВ STEINERNEMATIDAE И HETERORHABDITIDAE

Л. Г. Данилов, С. О. Васильева, А. Н. Гоголев

Оценена инвазионная активность разных географических популяций нематод путем заражения насекомых-хозяев при температурах от 10° до 30°. Выявлены существенные различия оптимальных температурных пределов инвазионной активности у различных видов и штаммов рабдитоидных энтомопатогенных нематод.

Энтомопатогенные нематоды семейства Steinernematidae и Heterorhabditidae рассматриваются в настоящее время как перспективные биологические агенты защиты от вредных насекомых. Эти нематоды в естественных условиях встречаются в почве и способны заражать широкий круг насекомых-хозяев (Кая, 1989). Поведение этих нематод как в почве, так и на открытой листовой поверхности растений в значительной мере определяется температурой окружающей среды. Инвазионные личинки нематод способны к активному поиску хозяина и проникновению в насекомых при температурах от 10 до 30° (Данилов, 1976). В полевых условиях в почве преобладают температуры, близкие к нижнему тепловому порогу проявления активности инвазионных личинок этих паразитов (Georgis, Gaugler, 1991). До сих пор остаются безуспешными попытки акклиматизировать нематод к температурам, регистрируемым в местах обитания насекомых в период, когда они могут быть наиболее эффективно использованы в качестве биологических агентов. При этом высказывается предположение, что изменение реакции нематод на температуру может быть достигнуто мутагенезом; возможен также поиск видов нематод, обитающих в холодных почвах (Birgmann, Rue, 1980, Dunphy, Webster, 1986).

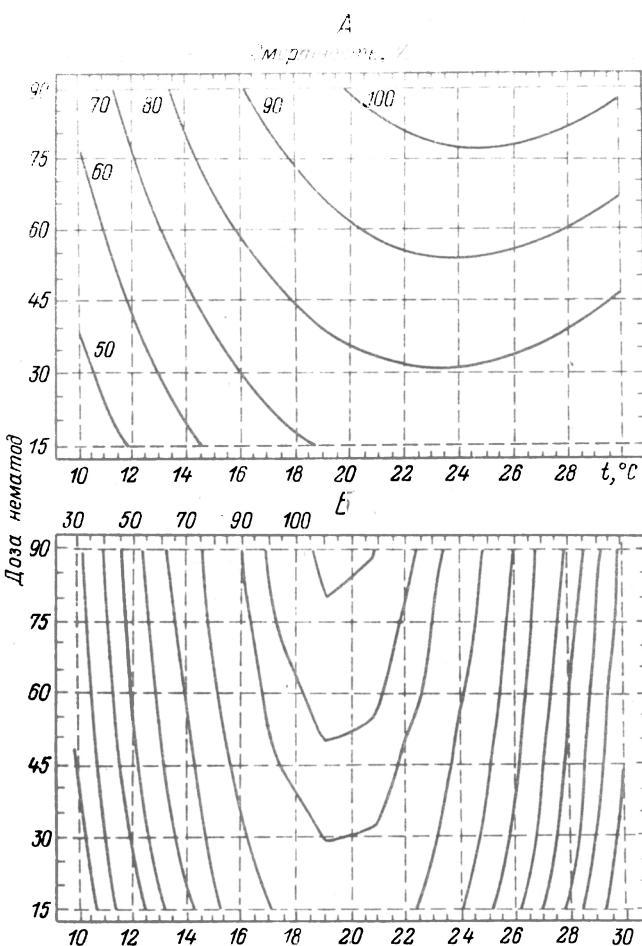
Настоящая работа посвящена изучению влияния температуры на инвазионную активность энтомопатогенных нематод, встречающихся в естественных условиях различных географических зон.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Испытуемые виды и штаммы нематод: *Steinernema carpocapsae* Weiser штамм «*agriotos*» выделен из щелкунов в Ленинградской области; *Steinernema feltiae* Filipiev (= *S. bibionis*) — австралийский штамм<sup>1</sup> *Steinernema* sp. 90 выделен из почв аласов в Якутии; *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (= *H. heliothidis*) — австралийский штамм, *Heterorhabditis* sp. выделен из почв садов в Ростовской области.

Особенности поведения инвазионных личинок нематод при различных температурах оценивали путем заражения тест-насекомых: гусениц смородинной стеклянницы *Synanthedon tipuliformis* Cl. и личинок белополосой кобылки

<sup>1</sup> Австралийские штаммы нематод получены из ГЕЛАН в 1986 г.



Графики линий равной смертности личинок кобылки *Chorthippus albomarginatus*, зараженных нематодами *Steinernema carpocapsae*, — штамм «*agriotos*» (А) и *Sreinernema* sp. 90 (Б) — в зависимости от дозы патогенов и температуры (96 ч после обработки).

Graph of equal mortality lines of *Chorthippus albomarginatus* larvae infected with nematodes *Steinernema carpocapsae* — strain «*agriotos*» (A) and *Steinernema* sp. 90 (B) related on pathogene dosage and temperature (96 hours after infestation).

*Chorthippus albomarginatus* De G. Гусеницы смородинной стеклянницы собраны с однолетних побегов черной смородины в плодопитомнике ВСТИСП (Московская обл.). Личинки кобылки получены с дикой растительности аласов Якутии.

Нематод культивировали в гусеницах большой вощинной огневки (*Galleria mellonella*), культуры инвазионных личинок хранили 10 дней до начала опыта при температуре 2—5°. Инвазионную активность оценивали по интенсивной гибели зараженных насекомых, которая находится в прямой зависимости от интенсивности проникновения (инвазионной активности) паразитов в тело хозяина (Веремчук, Данилов, 1978; Gapler et al., 1990, Glaser, 1991).

Оценку инвазионной активности нематод проводили по методу Веремчук и Данилова (1978). Тест-насекомых помещали по 10 особей в одну чашку Петри диаметром 9 см с кружком фильтровальной бумаги на дне, что и принимали за одну повторность. Нематод в 1 мл воды вносили на дно чашки. Виды и штаммы нематод испытывали в 4 дозах: 10, 30, 60 и 90 личинок на чашку Петри. В конт-

роле вносили на фильтры воду без нематод. Все варианты опыта и контроль имели 3—5-кратную повторность.

Изменения инвазионной активности нематод оценивали по эффективности заражения насекомых при температурах от 10 до 30°. Гибель насекомых учитывали через каждые 4 ч после начала заражения. Во время учетов погибших насекомых выбирали из чашек, вскрывали под бинокуляром МБС 10 и определяли причину их гибели (см. рисунок).

В опытах со смородинной стеклянницей линеаризацию зависимости доза—эффект проводили по алгоритму симметризации (Васильев и др., 1973). Достоверность различий по  $LD_{50}$  сравниваемых культур нематод оценивали по доверительным зонам, построенным на основе 95% уровня значимости. В случаях, когда зоны не перекрываются, достоверность различий считали доказанной на более высоком уровне значимости.

Математико-статистический анализ данных и построение математических моделей изучаемых процессов при заражении нематодами личинок саранчи проводили с использованием систем ЭВМ. В качестве основных статистических процедур использовались методы многофакторного и множественного регрессионного анализа. К статистическим моделям предъявлялись высокие требования по их точности (коэффициент детерминации не ниже 90%) и статистической значимости ( $p \leq 0.001$ ).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты оценки инвазионной активности энтомопатогенных нематод по показателю  $LD_{50}$  в отношении гусениц смородинной стеклянницы свидетельствуют о существенном влиянии температуры на процесс инвазирования хозяина различными видами и штаммами нематод (см. таблицу). Полученные нами данные показывают, что при температуре 13° наиболее низкая  $LD_{50}$  для гусениц стеклянницы была у нематод *Steinernema sp. 90*, выделенных из почв Якутии, в то время как с повышением температуры наибольший эффект получен для видов из южной зоны. При 25° самым эффективным был вид нематод *S. carpocapsae*, а при температуре 28° — *S. carpocapsae* и *S. feltiae*. Инвазионная активность гетерорабдитид повышалась при температурах от 25° до 28°.

По эффективности заражения гусениц стеклянницы гетерорабдитиды значительно уступали штейнернематидам.

Результаты сравнительной оценки инвазионности нематод видов *S. carpocapsae* и *Steinernema sp. 90* на другом тест-объекте — личинках кобылки представлена на рисунке. При заражении личинок кобылки нематодами *Steinernema sp. 90* 50%-ная смертность насекомых при дозе 15 инвазионных личинок и температуре 13° наступает уже на вторые сутки, тогда как у нематод

Влияние температуры на инвазионную активность энтомопатогенных нематод в отношении гусениц смородинной стеклянницы (в скобках — доверительные интервалы доз на уровне  $p \leq 0.05$ )

Вид нематод	$LD_{50}$ нематод при температурах		
	13°	25°	28°
<i>S. carpocapsae</i>	73 (70.8—75.1)	15 (12.9—17.2)	8 (5.9—10.2)
<i>S. feltiae</i>	85 (82.9—87.1)	25 (22.9—27.2)	10 (7.9—12.2)
<i>Steinernema sp. 90</i>	25 (22.9—27.2)	25 (22.9—27.2)	20 (17.9—22.2)
<i>H. bacteriophora</i>	90 (78.8—109.4)	40 (37.9—42.2)	30 (27.9—32.2)
<i>Heterorhabditis sp.</i>	94 (75.9—112.1)	38 (35.9—40.1)	39 (36.9—41.2)

*S. carpocapsae* этот показатель достигается при дозе 40 нематод на 4 сут после заражения.

Максимальная 100%-ная смертность личинок саранчи после заражения нематодами якутской популяции наступает при дозе 80 через 95 ч при температуре от 18 до 21°. Аналогичный уровень смертности насекомых в варианте с *S. carpocapsae* получен при дозе 77 личинок при температуре от 23 до 27.5°. Наибольшая активность инвазирования хозяина у нематод якутской популяции, таким образом, наблюдается при температуре от 13 до 21°. С повышением температуры патогенность этих нематод существенно снижается, уступая таковой нематодам *S. carpocapsae*. Следует отметить и более узкий предел оптимальной температуры у холодостойкого штамма нематод.

Полученные экспериментальные данные показывают, что способность к заражению насекомого-хозяина у видов и штаммов нематод изменяется в разной степени с изменением температуры. Нематоды *Steinernema* sp. 90, встречающиеся в почвах алосов Якутии, вероятно, более приспособлены к существованию при температурах, близких к нижнему порогу проявления активной жизнедеятельности штейнернематид, и наоборот, культура инвазионных личинок вида *S. feltiae*, выделенного в Австралии, показала низкую активность при 13° и достаточно высокую — при температуре, близкой к верхнему тепловому порогу существования вида. У инвазионных личинок гетерорабдитид способность к инвазированию насекомого-хозяина также проявляется в большей степени при температуре выше 20°. Отмеченная особенность биологии гетерорабдитид наблюдалась ранее и другими исследователями (Milstead, 1981). О существовании определенной зависимости между инвазионной активностью нематод при различных температурах и встречаемостью этих паразитов в естественных условиях свидетельствуют и результаты обнаружения нематод в различных географических зонах.

При обследовании почв в Якутии, Республике Коми, Ленинградской и Псковской областях до сих пор нам не удавалось выделить нематод семейства Heterorhabditidae, в то время как в южных районах России, например в Ростовской области, встречаемость гетерорабдитид в анализируемых пробах с тест-насекомыми достигает 50% от всех случаев обнаружения рабдитоидных энтомопатогенных нематод в естественных условиях.

При попытках искусственной адаптации нематод *S. feltiae* и *H. heliothidis* к температурам 15—25° путем пассирования нематод через гусениц *Galleria mellonella* при этих температурах достигалась только временная адаптация паразитов, но в дальнейшем нематоды быстро теряли приобретенную способность (Burgman, Rue, 1980). В других экспериментах осуществлялось культивирование нематод *S. feltiae* при 20 и 25° в течение девяти месяцев, однако и в этом случае не произошло адаптации нематод к пониженным температурам (Dunphy, Webster, 1986).

Имеются отдельные сообщения о возможности повышения холодостойкости симбиотических бактерий нематод путем использования мутагенеза и многократного культивирования бактерий при низких температурах, но при этом не изучалось влияние таких симбиотических бактерий на повышение холодостойкости в целом нематодно-бактериального комплекса (Clarke et al., 1992).

Можно, однако, предположить, что холодостойкость нематодно-бактериального комплекса *Steinernema* sp. 90 определяется как особенностями развития симбиотических бактерий, так и температурным преферендумом инвазионных личинок, смешанным в сторону низких температур. Признак холодостойкости у нематод якутской популяции по нашим наблюдениям сохраняется уже в течение 3 лет, несмотря на многократные пассажи этих нематод через *Galleria mellonella* при температуре 25—28°.

Особенности поведения в различных температурных условиях инвазионных личинок якутской популяции по сравнению с другими видами нематод, вероят-

но, связаны с генетически закрепленной способностью у них отыскивать хозяина и проникать в него при более низких температурах. Поскольку симбиотические бактерии готовят питательный субстрат для нематод, то и жизнеспособность последних будет зависеть от жизнедеятельности бактерий при относительно низких температурах.

Виды энтомопатогенных нематод, у которых личинки проявляют высокую инвазионную активность от 13 до 20°, перспективны для использования в качестве биологических агентов. Такие виды могут эффективно использоваться как против почвообитающих насекомых, так и насекомых, открыто питающихся надземными частями растений. Против почвообитающих видов насекомых нематод обычно применяют либо в ранневесенний период, когда вредители выходят из мест зимовки, либо осенью после ухода насекомых в почву на зимовку. В обоих случаях температура почвы не превышает 20° (Georgis, Gaugler, 1991). При применении нематод против открыто питающихся стадий развития насекомых обработки растений нематодами проводят в вечерние часы под росу, когда температура воздуха снижается до 10—13° и в этом случае наиболее перспективны виды нематод, активные при низких температурах.

Установленные нами зависимости патогенности у различных видов нематод от температуры свидетельствуют о необходимости дефференцированного подхода при подборе и оценке этих паразитов в качестве биологических агентов. Так, например, при обеззараживании черенков смородины от смородинной стеклянницы в контролируемых температурных условиях могут быть успешно использованы виды *S. carpocapsae* и *S. feltiae*. Однако в полевых условиях при весенних обработках растений целесообразно применять нематод *Steinernema* sp. 90. Кроме того, культуры нематод, обладающие высокой инвазионной активностью при относительно низких температурах, могут широко использоваться в генетических программах по улучшению поисковых способностей энтомопатогенных нематод в отношении насекомых-хозяев (Gaugler et al., 1989).

#### Список литературы

Васильев С. В., Поляков И. Я., Сергеев Г. Е. Теория и методы использования математического моделирования и ЭВМ в защите растений // Тр. ВИЗР. 1973. Вып. 39. С. 61—106.  
Веремчук Г. В., Данилов Л. Г. Методические указания по определению инвазионной активности нематодных культур рода *Neoaplectana* (*Steinernematidae*). Л., 1978. 7 С.  
Данилов Л. Г. Влияние температурного фактора на заражение гусениц воцинной моли (*Galleria mellonella*) и развитие в них энтомопатогенных нематод (*Neoaplectana carpocapsae* Weiser 1955, штамм «agriotos») // Бюл. ВИЗР. 1976. № 39. С. 14—18.  
Burman M., Rue A. K. *Neoaplectana carpocapsae*: Movement of nematode population optimal gradient // Exp. Parasitol. 1980. Vol. 49. P. 258—265.  
Clarke D. J., Wang H., Dowds B. C. Isolation generation of cold active strains of *Xenorhabdus luminescens*, the genus *Heterorhabditis* // Nematologica. 1992. Vol. 28, N 4. P. 404.  
Dunphy G. B., Webster J. M. Temperature effect on the growth and virulence of *Steinernema feltiae* strains and *Heterorhabditis* // J. Nematol. 1986. Vol. 18, N. 2. P. 270—272.  
Gapler S., Sharon E., Klein M., Glaser J. Factors involved in the nematode — bacteria pathogenic complex to Lepidoptera // 2nd Nematol., Congr., Veldhoven, 11—17 Aug., 1991: Program and Abstr. Wageningen, 1990. P. 79.  
Gaugler R., Cambel J. F., McGuire T. R. Selection for host-finding in *Steinernema feltiae* // J. Invertebr. Pathol. 1989. Vol. 54. P. 363—372.  
Georgis R., Gaugler R. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes // J. Econ. Entomol. 1991. Vol. 84. P. 714—720.  
Glaser J. Measures for evaluation of entomopathogenic nematode infectivity to insects // 2nd Nematol., Congr. Veldhoven, 11—17 Aug. 1991: Program and Abstr. Wageningen, 1990. P. 81.  
Kaya H. K. Entomogenous nematodes for insects control in YPM system. // «Biological Control in Agricultural YPM systems» (M. A. Hass and D. C. Herzog. Eds.). Academie Press. New York, 1985. P. 283—302.  
Milstead J. E. Influence of temperature and dosage on mortality of seventh instar larvae of *Galleria mellonella* (Insecta: Lepidoptera) caused by *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda: Rabditoidae) and *Xenorhabdus luminescens* // Nematologica. 1981. Vol. 27, N 2. P. 167—171.

ВИЗР, Санкт-Петербург

Поступила 26.05.1994

INFLUENCE OF THE TEMPERATURE ON THE INVASION ACTIVITY OF ENTOMOPATHOGENIC  
NEMATODES OF THE FAMILIES STEINERNEMATIDAE AND HETERORHABDITIDAE

L. G. Danilov, S. O. Vasilyeva, A. N. Gogolev

Key words: entomopathogenic nematodes, invasion activity, temperature influence, Steinernematidae, Heterorhabditidae.

SUMMARY

Invasion activity of different geographical populations of nematodes some genera of Steinernematidae and Heterorhabditidae against currant clearing moth, *Synanthedon tipuliformis*, and locust, *Chortippus albomarginatus* at 10 °C to 30 °C has been studied. The most active invasion into host insect by nematode population *Steinernerema* sp. 90 from Yakutia was observed at optimum temperature limits from 18 to 21 °C while the most high activity of *S. carpocapsae* — strain «*agriotos*» was observed from 23 to 27.5 °C. The highest activity of other nematode strains and species was observed at 20 °C.